

## INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

**PARIS** 

11) No de publication (A nutiliser que pour le classement et les commandes de reproduction )

2.070.560

69.42557

(21) N° d'euregistrement national (A utiliser pour les paiements d'annuités les demandes de copies officielles et toutes autres correspondances avec LTINPL)

## ® BREVET D'INVENTION

## PREMIÈRE ET UNIQUE PUBLICATION

• La présente invention appartient au domaine de l'identification de bactéries et l'établissement du profil enzymatique et de l'antibiogramme des bactéries.

Plus précisément elle concerne un procédé et un dispositif d'ensemencement d'une boîte de Pétri.

On sait que la première opération à faire pour identifier les bactéries contenues dans un échantillon est d'isoler et de multiplier ces bactéries. Dans le cas où l'échantillon est liquide, on place ce dernier dans un récipient que l'on soumet à une centrifugation énergique. La phase solide contenant les bactéries se sépare de la phase liquide et vient occuper le fond du récipient. Alors on élimine la phase liquide ; avec une spatule ou un écouvillon stérilisé, on prélève une partie de la phase solide contenant les bactéries et on ensemence une boîte de Pétri.

L'ensemencement réalisé de cette manière est une suite d'opérations longues faites manuellement.

Il nécessite un écouvillon qu'il faut stériliser avant et après l'opération l'opérateur procède à des contacts successifs et nombreux de l'écouvillon à la surface de la gélose de la boîte de Pétri. Cette opération manuelle, longue, peut être dangereuse pour l'opérateur si les bactéries sont génératrices de maladies infectieuses.

20 Un but de l'invention est de définir un procédé permettant un ensemencement rapide, inoffensif pour l'opérateur et dans lequel les opérations manuelles sont simplifiées ou automatisées.

Un autre but de l'opération est de réaliser un dispositif simple, bon marché, jeté après usage, pour mettre en œuvre le procédé.

- L'invention a pour objet un procédé pour l'ensemencement d'une boîte de Pétri ou analogue à partir d'un échantillon biologique liquide caractérisé en ce qu'il comprend les opérations suivantes :
  - on place l'échantillon dans un tube contenant un élément en métal ferromagnétique,
  - on centrifuge ledit tube,
- 30 on jette le liquide contenu dans le tube après centrifugation, l'élément étant maintenu à l'intérieur du tube,
  - on repose l'élément sur la surface active de la boîte de Pétri placée horizontalement.
- on fait effectuer à l'élément métallique des déplacements à la surface de la
   partie active de la boîte de Pétri, par des déplacements correspondants d'une
   pièce aimantée placée au-dessous de ladite boîte.

L'invention a également pour objet un tube fermé à une extrémité, destiné
à la centrifugation d'un échantillon de liquide biologique caractérisé par le
fait qu'il comprend des moyens pour maintenir à son intérieur un élément métallique
lorsque ce dernier est renversé, l'ouverture vers le bas.

Selon un mode préféré de réalisation, lesdits moyens comprennent, disposée intérieurement et au voisinage du fond du tube, une saillie capable de retenir ledit élément lorsque le tube est placé incliné par rapport à un plan horizontal, avec son ouverture vers le bas, la saillie étant du côté du plan horizontal, et
 5 de laisser échapper ladite lorsque le tube occupe une position déduite de la précédente par une rotation de 180° autour de son axe.

Avantageusement, le tube est à fond sensiblement conique, la saillie étant disposée le long d'une génératrice du cône.

L'invention va maintenant être précisée par la description qui va suivre d'un 10 mode préféré de réalisation du dispositif selon l'invention, donné à titre illustratif et nullement limitatif, en référence au dessin annexé dans lequel :

- les figures 1a et 1b représentent en élévation un tube selon l'invention, avant et après centrifugation,
- les figures 2a, 2b et 2c représentent le tube au cours des phases de son utili-15 sation,
  - les figures 3a et 3b représentent des trajectoires données à l'élément associé au tube,
  - les figures 4a à 4c représentent un flacon utilisable pour le prélèvement et le développement des bactéries apparaissant à la surface de la boîte de Pétri.
- Oans la figure 1a, on a représenté en élévation, un tube selon l'invention, portant la référence 1. Le tube a un fond sensiblement conique. Le long d'une génératrice du cône, le tube comporte une saillie intérieure 2. Le tube est rempli de l'échantillon à analyser, sous forme de liquide. Dans le tube est placée une bille métallique, en métal ferromagnétique. Après centrifugation, (figure 1b),
- les parties solides 5 de l'échantillon contenant les bactéries se déposent au fond du tube et sont surmontées d'une phase liquide 6.

La saillie du tube est telle que, lorsqu'on place le tube dans la position de la figure 2a, le liquide se vide, la bille étant retenue par la saillie.

Par rotation du tube de 180° autour de son axe, (figure 2b), la bille peut  $30\,\,\mathrm{s'}$ échapper.

Cette bille est déposée (figure 2c), sur la couche de gélose 8 d'une boîte de Pétri 9 placée horizontalement.

Par déplacement d'une pièce aimantée 10 placée sous la boîte de Pétri, on peut faire décrire à la bille toute trajectoire voulue à la surface de la gélose.

35 La bille, chargée de bactéries, dépose celles-ci en roulant, ce qui produit un ensemencement par épuisement régulier. Si la boîte de Pétri est circulaire, la trajectoire peut être une spirale (figure 3a) du centre vers la périphérie.

En adoptant une boîte carrée ou rectangulaire (figure 3b) on peut obtenir un ensemencement en créneaux réguliers.

Le tube décrit peut être aisément réalisé par montage, d'une seule pièce.

Son prix de revient est tellement faible qu'il est jeté après usage, ainsi que la bille qui lui est associée.

Ceci évite toute opération de nettoyage et de stérilisation.

L'opération d'ensemencement est rapide et pratiquement automatique.

En variante, la saillie peut être remplacée par une portion souple du tube permettant, par pincement, de maintenir la bille lorsqu'on jette le liquide après centrifugation.

Dans une autre variante, le tube ne contiendra ni saillie, ni partie souple, la bille étant maintenue lorsqu'on jette le liquide après centrifugation par un 10 aimant extérieur au tube ou solidaire de celui-ci, par exemple noyé dans la masse du tube. En éloignant l'aimant si celui-ci est extérieur, ou par une secousse donnée au tube, si l'aimant est solidaire du tube, on pourra faire tomber la bille sur la boîte de Pétri.

Après incubation, les bactéries à identifier sont observées à la loupe 15 binoculaire et isolées sur un milieu de culture en général liquide.

Le tube contenant le milieu de culture, peut avoir la forme indiquée dans les figures 4a et 4b.

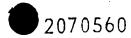
Le corps 17 est composé de 2 alvéoles 18 et 19 obturés par un même bouchon 20. Ce bouchon est donc en deux parties, dont l'une est munie d'un écouvillon 21.

Avant utilisation (figure 4a) la partie 22 du bouchon obture l'alvéole 18 où est ainsi logé l'écouvillon 21. La partie 23 du bouchon obture l'alvéole 19 qui contient le milieu de culture liquide. L'ensemble est présenté stérile.

On retire le bouchon (figure 4b). Avec l'écouvillon on prélève une colonie observée à la loupe et l'on rebouche le tube en plaçant l'écouvillon 21 dans 25 l'alvéole 19, la partie 22 obturant ainsi l'alvéole 19, la partie 23 l'alvéole 18 : l'écouvillon plonge ainsi dans le milieu de culture qu'il ensemence (figure 4c). L'ensemble sera jeté après usage.

Bien que le dispositif qui vient d'être décrit paraisse le plus avantageux pour la mise en oeuvre du procédé, on comprendra que diverses modifications peu30 vent lui être apportées sans sortir du cadre de celle-ci certains de ses éléments pouvant être remplacés par d'autres éléments susceptibles d'y assurer la même fonction technique.

- (



## REVENDICATIONS

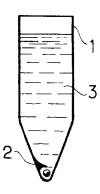
1/ Procédé pour l'ensemencement d'une boîte de Pétri ou analogue à partir d'un échantillon biologique liquide caractérisé en ce qu'il comprend les opérations suivantes :

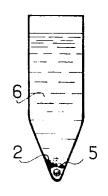
- 5 on place l'échantillon dans un tube contenant un élément en métal ferromagnétique,
  - on centrifuge ledit tube,
  - on jette le liquide contenu dans le tube après centrifugation, l'élément étant maintenu à l'intérieur du tube,
- on repose l'élément sur la surface active de la boîte de Pétri placée horizon-10 talement,
  - on fait effectuer à l'élément métallique des déplacements à la surface de la partie active de la boîte de Pétri, par des déplacements correspondants d'une pièce aimantée placée au-dessous de ladite boîte.
  - 2/ Tube fermé à une extrémité, destiné à la centrifugation d'un échantillon de
- 15 liquide biologique caractérisé par le fait qu'il comprend des moyens pour maintenir à son intérieur un élément métallique lorsque ce dernier est renversé, l'ouverture vers le bas.
  - 3/ Tube selon la revendication 2, caractérisé par le fait que lesdits moyens comprennent, disposée intérieurement et au voisinage du fond du tube, une saillie
- capable de retenir ledit élément lorsque le tube est placé incliné par rapport à un plan horizontal, avec son ouverture vers le bas, la saillie étant du côté du plan horizontal, et de laisser échapper ladite lorsque le tube occupe une position déduite de la précédente par une rotation de 180° autour de son exe.
  - 4/ Tube selon la revendication 3, caractérisé par le fait qu'il a un fond sensi-
- 25 blement en forme de cône.
  - 5/ Tube selon la revendication 4, caractérisé par le fait que ladite saillie est disposée le long d'une génératrice dudit cône.
  - 6/ Tube selon la revendication 2, caractérisé par le fait que lesdits moyens sont constitués par une partie souple dudit tube, permettant de saisir l'élément
- 30 métallique.
  - 7/ Tube selon la revendication 2, caractérisé par le fait que les dits moyens comprennent un aimant extérieur au tube.
  - 8/ Tube selon la revendication 2, caractérisé par le fait que lesdits moyens comprennent un aimant solidaire du tube.
- 35 9/ Tube selon la revendication 8, caractérisé par le fait que ledit aimant est noyé dans la masse du tube.

FIG.1a



FIG.2a





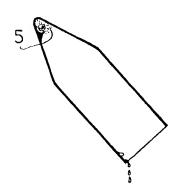
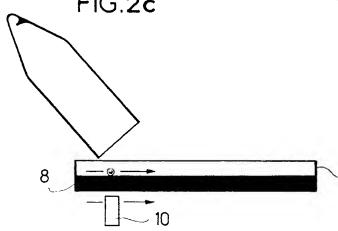


FIG.2c



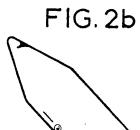


FIG.3a

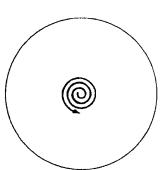


FIG.3b

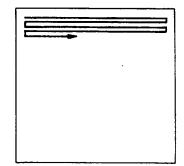


FIG.4a

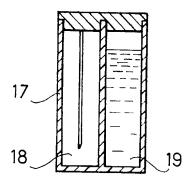


FIG.4b

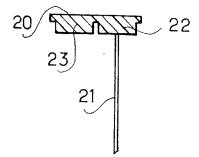


FIG.4c

